

(19)



JAPANESE PATENT OFFICE

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number: **07075569 A**

(43) Date of publication of application: **20.03.95**

(51) Int. Cl.

C12N 9/10
//(C12N 9/10 , C12R 1:625)

(21) Application number: **06001703**

(22) Date of filing: **12.01.94**

(30) Priority: **04.03.87 JP 62 49157**

(62) Division of application: **62165067**

(71) Applicant: **AJINOMOTO CO INC AMANO
PHARMACEUT CO LTD**

(72) Inventor: **MOTOKI MASAO
OKIYAMA ATSUSHI
NONAKA MASAHIKO
TANAKA HARUO
UCHIO RYOSUKE
MATSUURA AKIRA
ANDO HIROYASU
UMEDA KOICHI**

(54) NOVEL TRANSGLUTAMINASE

(57) Abstract:

PURPOSE: To obtain the novel enzyme capable of catalyzing acyltransfer reaction of θ -carboxamide group of glutamine residue in a peptide chain, exhibiting Ca^{2+} independency and capable of producing a high-quality gelled protein even under a low enzyme concentration and a low substrate concentration.

CONSTITUTION: A novel transglutaminase capable of catalyzing acyl-transfer reaction of θ -carboxamide group of glutamine residue in a peptide chain,

exhibiting Ca^{2+} independency, having an optimum pH in the vicinity of about 5 to 8, stable in the vicinity of pH5 to 9 and capable of acting on one of benzyloxycarbonylglutaminylglycine, benzyloxycarbonylglutaminylglycine ethyl ester, benzyloxycarbonylglutaminylglutaminylglycine, benzyloxycarbonylglycylglutaminylglycine, benzyloxycarbonylglycylglycylglutaminylglycine, etc. This enzyme can be obtained from a microorganism and produce a high-quality protein even under a low enzyme concentration and a low substrate concentration.

COPYRIGHT: (C)1995,JPO

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平7-75569

(43)公開日 平成7年(1995)3月20日

(51)Int.Cl.⁶
C 12 N 9/10
// (C 12 N 9/10
C 12 R 1:625)

識別記号 広内整理番号
9359-4B

F I

技術表示箇所

(21)出願番号 特願平6-1703
(62)分割の表示 特願昭62-165067の分割
(22)出願日 昭和62年(1987)7月1日
(31)優先権主張番号 特願昭62-49157
(32)優先日 昭62(1987)3月4日
(33)優先権主張国 日本 (J P)

審査請求 有 発明の数1 OL (全19頁)

(71)出願人 000000066
味の素株式会社
東京都中央区京橋1丁目15番1号
(71)出願人 000216162
天野製薬株式会社
愛知県名古屋市中区錦1丁目2番7号
(72)発明者 本木 正雄
神奈川県川崎市川崎区鈴木町1-1 味の
素株式会社中央研究所内
(72)発明者 沖山 敏
神奈川県川崎市川崎区鈴木町1-1 味の
素株式会社中央研究所内
(74)代理人 弁理士 川口 義雄 (外3名)
最終頁に続く

(54)【発明の名称】 新規なトランスクルタミナーゼ

(57)【要約】

【目的】 供給量、コストの面、精製の容易さ等のいずれの面からも問題はなく、しかも反応にCa²⁺を必要としない点等、実用性の高い新規なトランスクルタミナーゼの提供。

【構成】 ベブチド鎖内のグルタミン残基のγ-カルボキサミド基のアシル転移反応を触媒するトランスクルタミナーゼであって、Ca²⁺に非依存性であり、至適pHが5~8付近にあり、pH5~9付近で安定であり、ベニシルオキシカルボニルグルタミニルグリシンなどに基質特異性を有する新規なトランスクルタミナーゼ。

【効果】 カルシウム非存在下で又カルシウム存在下でも酵素濃度及びタンパクの基質濃度が非常に低いところで品質の優れたタンパクゲル化物を製造できる。

1

2

【特許請求の範囲】

【請求項1】 ベブチド鎖内のグルタミン残基の γ -カルボキサミド基のアシル転移反応を触媒するトランスグルタミナーゼであって、 Ca^{2+} に非依存性であり、至適pHが5~8付近にあり、pI15~9付近で安定であり、ベンジルオキシカルボニルグルタミニルグリシン、ベンジルオキシカルボニルグルタミニルグリシンエチルエステル、ベンジルオキシカルボニルグルタミニルグルタミニルグリシン、ベンジルオキシカルボニルグリシルグルタミニルグリシルグリシン、ベンジルオキシカルボニルグリシルグルタミニルグリシルグルタミニルグリシンのいずれかに作用する性質を有することを特徴とする新規なトランスグルタミナーゼ。

【請求項2】 微生物より得られることを特徴とする請求項1記載の新規なトランスグルタミナーゼ。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は新規なトランスグルタミナーゼに関する。

【0002】 トランスグルタミナーゼは、ベブチド鎖内にあるグルタミン残基の γ -カルボキサミド基のアシル転移反応を触媒する酵素である。このトランスグルタミナーゼは、アシル受容体としてタンパク質中のリジン残基の ϵ -アミノ基が作用すると、分子内及び分子間に ϵ -(γ -Glu)-Lys架橋結合が形成される。また、水がアシル受容体として機能するときは、グルタミン残基が脱アミド化されグルタミン酸残基になる反応を進行させる酵素である。

【0003】 なお、本発明の新規トランスグルタミナーゼを利用してタンパクゲル化物を製造することができるが、このようにして製造されるゲル化物は、従来のゲル状食品、ゲル状化粧料などを同様にして用いられる。更に、このようにして製造されるゲル化物は、未加熱で製造でき、熱に安定なゲルであるため、マイクロカプセルの素材、固定化酵素等の担体などとしても広範囲に用いることができるものである。

【0004】

【従来の技術】 トランスグルタミナーゼはこれまで動物由来のものが知られている。例えばモルモットの肝臓 [Connellan et al., ジャーナル・オブ・バイオロジカル・ケミストリー (Journal of Biological Chemistry) 246巻4号1093~1098頁(1971)] 及び哺乳動物の臓器、血液に広く分布し [Folk et al., アドバンセス・イン・エンザイモロジー (Advances in Enzymology) 38巻 109~191 頁 (1973)、Folk et al., アドバンセス・イン・プロテイン・ケミストリー (Advances in Protein Chemistry) 31巻 1~133 頁 (1977)]、その酵素の特徴も研究されている。また、これらの動物由来のトランスグルタミナーゼを用いるタンパク質のゲル化物の製造法につ

いては本発明者等が既に研究を行なっている (特開昭58-149645号)。

【0005】 しかし、この動物由来のトランスグルタミナーゼの産業への利用、特にタンパク質のゲル化物の製造法には以下に述べるような欠点を有する。

【0006】 動物由来のトランスグルタミナーゼは安価にまた大量に入手するのが困難である。また、ゲル化させるのには、この高価な酵素が基質タンパク質1gあたり、1ユニット以上必要でかつ、基質タンパク濃度が2.0重量%以上必要であるという制限があること、更には、この動物由来のトランスグルタミナーゼはカルシウム (Ca^{2+}) 依存性である為に用途が制限される。

【0007】 以上のような欠点を有する為に、動物由来のトランスグルタミナーゼを用いるゲル化物の製造についての実用化は困難であるのが現状である。

【0008】

【発明が解決しようとする課題】 従来トランスグルタミナーゼの供給は動物に由来しているため実用性を考慮した場合、供給量、供給費用、保存費用、精製の困難さ等の種々の面から不利でありこのままでは産業上の利用への可能性はほとんど考えられなかった。

【0009】 従って、本発明の課題は供給量、コストの面、精製の容易さ等のいずれの面からも問題はなく、しかも反応に Ca^{2+} を必要としない点等、実用性の高い新規なトランスグルタミナーゼの提供である。

【0010】

【問題点を解決するための手段】 これまで動物由来の酵素が検討されてきたが実用性に欠けるため、本発明者等は給源を微生物に求め広く検索を行った結果、ストレプトペルチシリウム属の菌について Ca^{2+} 非存在下でもベブチド鎖内のグルタミン残基の γ -カルボキサミド基のアシル転移反応を触媒する従来にない新規トランスグルタミナーゼ産性能があることが分かった。また、この酵素を用いることにより、タンパク質濃度1.0重量%以上のタンパク含有溶液又はスラリーをゲル化させてタンパクゲル化物を製造できることを見い出し、本発明を完成するに至った。

【0011】 すなわち、本発明は、 Ca^{2+} 非依存性の、ベブチド鎖内のグルタミン残基の γ -カルボキサミド基のアシル転移反応を触媒する新規なトランスグルタミナーゼに関する。この新規なトランスグルタミナーゼの作用により、タンパク質濃度1重量%以上のタンパク含有溶液又はスラリーをゲル化させることができる。

【0012】 ストレプトペルチシリウム属の菌を具体的に示すと、ストレプトペルチシリウム・グリセオカルネウム (Streptoverticillium griseocarneum) IFO 12776, ストレプトペルチシリウム・シナモネウム・サブ・エスピー・シナモネウム (Streptoverticillium cinnamoneum sub sp. cinnamoneum) IFO 12852, ストレプトペルチシリウム・モバラエンス (Streptoverticill

3

iwm moharaense) IFO 13819等があげられる。

【0013】これら微生物を培養し、トランスクルタミナーゼ(尚、以後BT Gaseと記す)を取得するための培養法及び精製法等について述べる。

【0014】本発明を実施するにあたり、その培養形態としては液体培養、固体培養いずれも可能であるが、工業的には深部通気攪拌培養を行うのが有利である。

【0015】又、使用する栄養培地の培養源としては一般に微生物培養に用いられる炭素源、窒素源、無機塩及びその他の微量栄養源の他、ストレプトペルチシリウム属に属する微生物の利用出来る栄養源であれば全て使用出来る。培地の炭素源としてはブドウ糖、ショ糖、可溶性デンプン「ラスターーゲン」(商品名)、グリセリン、デキストリン、澱粉等の他、脂肪酸、油脂、有機酸などが単独で又は組合せて用いられる。窒素源としては無機窒素源、有機窒素源のいずれも使用可能であり、無機栄養源としては硝酸アンモニウム、硫酸アンモニウム、尿素、硝酸ソーダ、塩化アンモニウム等が挙げられる。又、有機窒素源としては大豆、米、トウモロコシ、小麦などの粉、糠、脱脂粕はじめコーンスティーブリカーチ、ペプトン、肉エキス、カゼイン、アミノ酸、酵母エキス等が挙げられる。無機塩及び微量栄養素としてはリン酸、マグネシウム、カリウム、鉄、カルシウム、亜鉛等の塩類の他ビタミン、非イオン界面活性剤、消泡剤等の菌の生育やBT Gaseの生産を促進するものであれば必要に応じて使用出来る。

【0016】培養は好気的条件で、培養温度は菌が発育しBT Gaseが产生する範囲であれば良く、好ましくは25~35°Cである。培養時間は条件により異なるがBT Gaseが最も产生される時間まで培養すれば良く、通常2~30

【表1】 第1表：活性測定に用いる試薬

試薬A 0.2Mトリス塩酸緩衝液(pH6.0)

0.1Mヒドロキシルアミン

0.01M還元型グルタチオン

0.03Mベンジルオキシカルボニル-L-グルタミルグリシン

試薬B 3N塩酸

12%トリクロロ酢酸

5%FeCl₃·6H₂O (0.1N-HClに溶解)

上記溶液の1:1:1の混合液を試薬Bとする。

【0023】酵素液の0.05mlに試薬A 0.5mlを加えて混合し37°Cで10分間反応後、試薬B 0.5mlを加えて反応停止とFe錯体の形成を行った後525nmの吸光度を測定する。対照としてあらかじめ熱失活させた酵素液を用いて同様に反応させたものの吸光度を測定し、酵素液との吸光度差を求める。別に酵素液のかわりにL-グルタミ

ン酸アーモノヒドロキサム酸を用いて検量線を作成し、前記吸光度差より生成されたヒドロキサム酸の量を求め、1分間に1μモルのヒドロキサム酸を生成する酵素活性を1単位とした。

【0024】このようにして得られる精製BT Gaseの酵素化学的性質を以下に述べる。尚、ストレプトペルチ

4

* ~4日程度である。

【0017】BT Gaseは液体培養では培養液中に溶解されており、培養終了後培養液より固体分を除いた培養ろ液より採取される。培養ろ液よりBT Gaseを精製するには通常酵素精製に用いられるあらゆる方法が使用出来る。

【0018】例えば、エタノール、アセトン、イソプロピルアルコール等の有機溶媒による処理、硫酸、食塩等による塩析、透析、限外ろ過法、イオン交換クロマトグラフィー、吸着クロマトグラフィー、ゲルろ過、吸着剤、等電点分画等の方法が使用出来る。又、これらの方法を適当に組合せる事によりBT Gaseの精製度が上がる場合は適宜組合せて行う事が出来る。

【0019】こうしてこれらの方法によって得られた酵素液に安定化剤として各種の塩類、糖類、蛋白質、脂質、界面活性剤等を加え或いは加えることなく、限外ろ過濃縮、逆浸透濃縮、減圧乾燥、凍結乾燥、噴霧乾燥の方法を施すことにより液状又は固体の精製BT Gaseを得ることが出来る。

【0020】BT Gaseの活性測定はベンジルオキシカルボニル-L-グルタミルグリシンとヒドロキシルアミンを基質としてCa²⁺非存在下で反応を行い、生成したヒドロキサム酸をトリクロロ酢酸存在下で鉄錯体を形成させ525nmの吸収を測定し、ヒドロキサム酸の量を検量線より求め活性を算出する。

【0021】BT Gase活性は特に記載しないかぎり下記第1表に示す試薬を用い、以下に記載する方法により測定した。

【0022】

【表1】

5

シリウム属内の菌株の種類により BT Gase の酵素化学的性質について若干の相違点がみられるので、それぞれの菌株の生産する BT Gase、即ちストレプトペルチシリウム・モバラエンス (*Streptoverticillium mobaraense*) IFO 13819 のトランスクルタミナーゼ (BTG-1と命名)、ストレプトペルチシリウム・グリセオカルネウム (*Streptoverticillium griseocarneum*) IFO 12776 のトランスクルタミナーゼ (BTG-2と命名)、ストレプトペルチシリウム・シナモネウム・サブ・エヌビー・シナモネウム (*Streptoverticillium cinnamoneum* sub sp. *cinnamoneum*) IFO 12852 のトランスクルタミナーゼ (BTG-3と命名) についての酵素化学的性質を記載するとともに、それを包含したものを BT Gase の酵素化学的性質とする。

【0025】a) 至適pH: 5~8付近

基質としてベンジルオキシカルボニル-L-グルタミルグリシンとヒドロキシルアミンを使用し、37°C、10分反応で作用至適pH範囲を求めた。尚、BTG-1の至適pHは5~8付近にあり、BTG-2の至適pHは5.5~7.5付近にあり、BTG-3の至適pHは5.5~7.5付近にある(図1、図5、及び図9参照)。

【0026】b) 至適温度: 45~55°C付近

基質としてベンジルオキシカルボニル-L-グルタミルグリシンとヒドロキシルアミンを使用し、pH 6、10分反応での作用至適温度範囲を求めた。尚、BTG-1の至適温度は55°C付近であり、BTG-2の至適温度は45°C付近であり、BTG-3の至適温度は45°C付近にある(図2、図6、及び図10参照)。

【0027】c) pH安定性: pH 5~9付近

6

*37°C、10分間処理でのpH安定性を求めた。尚、BTG-1はpH 5~9付近で安定であり、BTG-2はpH 5~9付近で安定であり、BTG-3はpH 6~9付近で安定である(図3、図7及び図11参照)。

【0028】d) 温度安定性

pH 7で10分間処理での温度安定範囲を求めた。40°Cでは80%以上、50°Cでは50~80%の活性がそれぞれ残存した。尚、BTG-1は40°Cでは88%活性が残存し、50°Cでは74%活性が残存し、BTG-2は40°Cでは86%活性が残存し、50°Cでは56%活性が残存し、BTG-3は40°Cで80%活性が残存し、50°Cでは53%活性が残存する(図4、図8、及び図12参照)。

【0029】e) 基質特異性

BT Gase の各種合成基質とヒドロキシルアミンとの反応を調べた。

【0030】合成基質がベンジルオキシカルボニルアスパラギニルグリシン、ベンジルオキシカルボニルグルタミン、グリシルグルタミニルグリシンの場合反応しない。

【0031】しかし、合成基質がベンジルオキシカルボニルグルタミニルグリシンの場合の反応性は最も高い。この時の各種合成基質濃度は5mMとした。

【0032】結果は第2表に示される。なお、同表中のCBZはベンジルオキシカルボニル基の略であり、Glnはグルタミル基の略であり、Glyはグリシル基の略であり、Asnはアスパラギニル基の略である。

【0033】

【表2】

第2表

基質	BT Gase		
	BTG-1	BTG-2	BTG-3
CBZ-Gln-Gly	% 100	% 100	% 100
CBZ-Gln-Gly-OEt	63	44	42
CBZ-Gln-Gln-Gly	38	39	35
CBZ-Gly-Gln-Gly-Gly	8	12	11
CBZ-Gly-Gly-Gln-Gly	23	58	60
CBZ-Gln	0	0	0
CBZ-Asn-Gly	0	0	0
Gly-Gln-Gly	0	0	0

【0034】f) 金属イオンの影響

活性測定系に1mM濃度になるように各種金属イオンを加えて影響を調べた。

【0035】結果は第3表に示される。BT Gase はC

u²⁺, Zn²⁺により活性が阻害される。

【0036】

【表3】

第3表

金属イオン	BTGase		
	BTG-1	BTG-2	BTG-3
None	96	96	96
CaCl ₂	100	100	100
BaCl ₂	101	102	102
CoCl ₂	101	99	105
CuCl ₂	103	103	103
FeCl ₃	79	82	86
KCl	96	99	105
MgCl ₂	102	104	103
MnCl ₂	98	97	97
NaCl	99	102	101
NiCl ₂	102	100	101
Pb(CH ₃ COO) ₂	97	97	100
SrCl ₂	100	101	100
ZnCl ₂	15	24	24

【0037】g) 阻害剤の影響

各阻害剤を1 mMになるように加え、25°C、30分放置後、活性を測定した。

【0038】結果は第4表に示される。BTGaseはパ30【表4】

*N-エチルマレイミド(NEMと略する)、モノヨード酢酸により活性が阻害される。

*N-エチルマレイミド(NEMと略する)、モノヨード酢酸により活性が阻害される。

【0039】

第4表

阻害剤	BTGase		
	BTG-1	BTG-2	BTG-3
None	96	96	96
EDTA	100	100	100
PCMB	102	98	99
NEM	54	61	63
モノヨード酢酸	5	5	3
PMSF	64	50	67
	104	95	101

【0040】同表中PMSFはフェニルメチルスルホニルフルオライドの略である。

(pI)は9.8付近である。

【0041】h) 等電点: 8.9~9.9付近
アンホライン等電点電気泳動により求めた。尚、BTG-1の等電点(pI)は9付近であり、BTG-2の等電点(pI)は9.7付近であり、そしてBTG-3の等電点

分子量: 約38,000~約41,000 SDSディスク電気泳動法より求めた。尚、BTG-1の分子量は約38,000であり、BTG-2の分子量は約41,000であり、BTG-3の分子量は約41,000である。

【0043】次に、BTGaseとモルモット肝由来のト

9

ransglutaminase (以後MT Gase と記す)との性質を比較する。尚、MT Gase は特開昭58-149645号に記載された方法で調製した。

【0044】第5表には各酵素化学的性質の比較を、第6表にはCa²⁺の活性に及ぼす影響を示す。第5表及び第6表より明らかのように、従来主として研究されているMT Gase とBT Gase とでは酵素化学的性質において

*で種々の差が見られる。特に、Ca²⁺の存在下及び非存在下のいずれにおいても本発明のBT Gase は作用する点等で明らかな差が見られる。従って、本発明のBT Gase はMT Gase とはその性質を明らかに異なるものであり、新規なransglutaminaseである。

【0045】

【表5】

第5表

	BT Gase			MT Gase
	BTG-1	BTG-2	BTG-3	
至適pH	5~8付近	5.5~7.5付近	5.5~7.5付近	6
pH安定性	5~9付近	5~9付近	6~9付近	6~7.5
至適温度	55°C付近	45°C付近	45°C付近	50~55°C
温度安定性(%)				
40°C残存率	88	86	80	96
50°C残存率	74	56	53	40
分子量	約38,000	約41,000	約41,000	約90,000
等電点	9.0	9.7	9.8	4.5
基質特異性(%)				
CBZ-Gly-Gly	100	100	100	100
CBZ-Gln-Gly-OEt	63	44	42	122
CBZ-Gln-Gln-Gly	38	39	35	288
CBZ-Gly-Gln-Gly-Gly	8	12	11	126
CBZ-Gly-Gly-Gln-Gly	23	58	60	27

【0046】

※30※【表6】

第6表

金属イオン	BT Gase			MT Gase
	BTG-1	BTG-2	BTG-3	
None	% 99	% 98	% 100	% 0
1mM CaCl ₂	100	100	99	39
5mM CaCl ₂	100	100	98	100

【0047】次にBT Gase を用いるタンパクゲル化物の製法について述べる。

【0048】まず、基質となるタンパク質は、リジン残基及びグルタミン残基を有し、上述の酵素の触媒をうけるものであれば、その起源、性状に制約されるものではなく、植物性タンパク質、動物性タンパク質、微生物タンパク質、藻類タンパク質などいかなるものでも使用で

きる。植物性タンパク質としては特にその種類は限定しないが、例えば油糧種子の脱脂物及びそれより分離したタンパク質などを挙げることができる。また、動物性タンパク質としては、特にその種類は限定しないが、たとえば乳タンパク、ゼラチン、コラーゲン、血清アルブミン等を例示することができる。

【0049】また、本発明に用いる蛋白質としては前記

11

以外にもプロテアーゼなどで部分的に切断したタンパク質、合成ペプチドおよび各種の化学修飾したタンパク質でも、グルタミン残基、リジン残基を有する条件が満たされれば、この酵素の基質とことができる。

【0050】これらのタンパク質の1重量%以上、好ましくは3重量%以上の液体又はスラリーであれば、BT Gase の添加により高粘性物、あるいはゲル状物が形成され、1重量%以下であれば、溶液状又は沈殿状の架橋高分子化物が得られる。BT Gase はタンパク1gに対して0.01~2000ユニット添加、好ましくは0.1~200ユニット添加、反応溶液のpHは4~10、好ましくは5~8に調整し、5~80℃、好ましくは40~60℃で10秒~24時間、好ましくは10分~2時間インキュベートすると架橋高分子化物ないしはゲル状物を得ることができる。このように、本発明のBT Gase は低い酵素濃度でゲル化できる（基質タンパク質1gあたり0.01ユニット以上あればよい）、及び低い基質濃度で使用できる（基質タンパク質濃度1重量%以上あればよい）等の特徴を有する新規な酵素である。

【0051】このBT Gase 処理により十分なゲル化物が得られるが、更に必要により反応終了後のゲル化物を60~200℃で1分間~24時間加熱処理することにより更に強固なゲル化物が得られる。このタンパク含有溶液は単にタンパクと水との混合物に限らず、タンパク、水および油脂を混合した水中油型又は油中水型エマルジョンであってもよく、各種塩類、澱粉、少糖類、多糖類、香料、保湿剤、着色料などもBT Gase による架橋高分子化及びゲル化を阻害しない範囲で適宜選択して添加することができる。

【0052】またタンパク質の種類と量を調整することによって架橋高分子化物の架橋度を変えることができ、これにより、生成するゲルの物性及び含水量を目的と用途に応じて変えることができる。

【0053】

【実施例】以下に本発明の実施例について述べる。

【0054】実施例1

ストレプトベルチシリウム・モバラエンス (*Streptoverticillium moharaense*) IFO13819 を培地組成ポリペプトン 0.2%、グルコース 0.5%、リン酸二カリウム 0.2%、硫酸マグネシウム 0.1%からなる水性培地 (pH 7) 200mlに接種し30℃、48時間培養し、得られた種培養液をポリペプトン 2.0%、「ラスターーゲン」 2.0%、リン酸二カリウム 0.2%、硫酸マグネシウム 0.1%、酵母エキス 0.2%、消泡剤としてポリオキシアルキレングリコールの「アデカノール」（商品名、旭電化社製品）0.05%からなる培地20L (pH 7) に加え30℃で3日間培養後ろ過し、培養液18.5Lを得た。このものの活性は0.35ユニット/mlであった。

【0055】培養液を塩酸でpH6.5に調製し、予め0.05Mリン酸緩衝液 (pH6.5)で平衡化しておいたメタアクリ

50

12

ル酸系ポーラス型陽イオン交換樹脂の「アンバーライト CG-50」（商品名、ローム・アンド・ハース社製品）のカラムに通した。この操作でトランスクルタミナーゼは吸着された。さらに同緩衝液で不純蛋白質を洗い流した後、さらに0.05~0.5Mの同緩衝液の濃度勾配をつくり、通液して溶出液を分画回収し、比活性の高い分画を集めめた。

【0056】電導度を10ms以下になるように希釈後「ブルーセファロースCL-6B」（商品名、ファルマシア・ファインケミカル社製）のカラムに通した。この操作でトランスクルタミナーゼは吸着された。更に0.05Mリン酸緩衝液 (pH 7) で不純蛋白質を洗い流した後、0~1Mの食塩濃度勾配をつくり通液して溶出液を回収し比活性の高い画分を集めた。

【0057】限外濾過膜の「A1L1010」（商品名、旭化成工業（株）製）を使い濃縮し、0.5Mの食塩を含む0.05Mリン酸緩衝液 (pH 7) を用いて平衡化させた。

【0058】得られた濃縮液を同緩衝液で予め平衡化しておいた「セファデックスG-75」（商品名、ファルマシア・ファインケミカル社製）を含むカラムに通し、同緩衝液を流して溶出液を分画した。

【0059】この結果活性画分は単一のピークとして溶出された。このものの比活性は培養液に対し 625倍であり、回収率は47%であった。

【0060】実施例2

実施例1と同様にしてストレプトベルチシリウム・グリセオカルネウム (*Streptoverticillium griseocarneum*) IFO 12776を30℃で3日間培養後ろ過し培養液19Lを得た。このものの活性は0.28u/mlであった。

実施例1と同様な方法で酵素を生成してSDSディスク電気泳動で単一の酵素を得た。

【0061】実施例3

実施例1と同様にしてストレプトベルチシリウム・シナモネウム・サブ・エスピー・シナモネウム (*Streptoverticillium cinnamoneum* sub sp. *cinnamoneum*) IFO 12852を30℃で3日培養後ろ過し、培養液18.5Lを得た。このものの酵素活性は0.5u/mlであった。

【0062】実施例1と同様な方法で酵素を精製してSDSディスク電気泳動で単一の酵素を得た。

【0063】実施例4

(1) 特開昭58-149645号の実施例1に記載された方法により調製または購入した食品タンパク類、すなわち(1) α₁-カゼイン、(2) Na-カゼイネート、(3) 大豆11Sグロブリン、(4) 大豆7Sグロブリン、(5) 分離状大豆タンパク「アジプロンS-2」（商品名、味の素（株）製）、(6) 水抽出大豆タンパク、(7) 酸沈澱大豆タンパク、(8) 大豆タンパク粒子、(9) 大豆タンパクミセル、(10)ゼラチンの各5および10重量%の水溶液または懸濁液5mlに、実施例1で調製したBT Gase (凍結乾燥品、比活性2.50u/mg protein) をタンパク1mg当

13

り0.02u加え、55℃、1時間振盪インキュベートした。

【0064】室温放置後、サンプルの入った試験管を倒置し、流れ落ちるかどうかでゲル化を判定した。結果は下記第7表に示した。

【0065】(2) BTGase の基質とするためウサギミオシンを次のように調製した。

【0066】Perry の方法 (Perry, S.V. (1975), "Methods in Enzymology" vol. 2, pp. 582-588, Academic Press, New York) に従い、ウサギの骨格筋25gより3倍量の0.45M KC1、5mM ATP-MgCl₂、50 mMリシン酸緩衝液 (pH 6.4) 中で0℃、30分間ミオシンを抽出し、以下希釈沈殿によって集め 0.5M KC1、20 mM Tris-maleate (pH7.5) 溶液に透析し、10⁵ × gで60分間遠心分離した上清を精製ミオシンとして使用した。

【0067】タンパク濃度は 1.5% であった。これに上記(1)と同様の条件で BTGase を添加しゲル化能を調べた。結果は下記第7表に示した。

【0068】(3) BTGase の基質とするためエビミオシンを次のように調製した。

【0069】新鮮(生)甘えび(体長約5cm)の皮をむきエビ屈曲筋肉をとり出し、ミンチ後、氷水洗浄し、更

に冷却下0.1mM DTT、0.1mM PMSF 存在下でホモジナイズし、遠心分離でアクトミオシンを抽出分離した。更に10⁵ × gで60分間超遠心操作によりアクチンを除きミオシンに富んだ画分を得た。更に希釈沈殿／超遠心操作を繰り返し、エビ精製ミオシンを得た。この精製ミオシンは Ca-ATPase 活性がなくアクチンとの結合能も消失していることから、変性ミオシンであることがわかった。

【0070】このタンパク濃度 3.6% の変性エビミオシン溶液 5ml (緩衝液、0.5M KC1、5mM CaCl₂、25mM Tris-HCl (pH 7.5) 5mM DTT) に対し 3.6u の BTGase (実施例1と同様の方法で調製) を添加し、35℃の水浴中に浸漬することによって反応を開始し、最大35分間反応させた。

【0071】以上のゲル化能の実験結果をまとめると第7表のようになった。

【0072】尚、比較例として、MTGase によるゲル化能試験結果も示した。尚、MTGase の添加量は基質たんぱく質 1mg 当り 0.1u とした。

【0073】

【表7】

第7表 各種タンパク質の BTGase による
ゲル化（試験管倒置法）

食品タンパク質	濃度(%)	BTGase	MTGase
α_{S1} -カゼイン	5	○	○
	10	○	○
Na-カゼインネット	5	○	△
	10	○	○
大豆11Sグロブリン	5	○	△
	10	○	○
大豆7Sグロブリン	5	○	×
	10	○	○
アジプロンS-2	5	○	×
	10	○	○
水抽出大豆タンパク	5	○	×
	10	○	○
酸沈殿大豆タンパク	5	○	×
	10	○	○
大豆タンパク粒子	5	○	×
	10	○	△
大豆タンパクミセル	5	△	×
	10	○	△
ゼラチン	5	○	×
	10	○	○
ウサギミオシン	1.5	○	○
エビミオシン	3.6	○	○

(注) ○: ゲル化

△: 弱いゲル

×: 溶液のまま

MTGase は37°C、1時間反応させた。

【0074】実施例5

ゼラチン（新田ゼラチン製）に5.10重量%溶液となるよう 40
うに 0.1M トリス-HCl buffer (pH7.6) を加え、60 °C、3 分で完全にゼラチンを溶解し、実施例4(1)におけると同様 BTGase を 0.02u/mgタンパク質加えよく攪拌後 37°C、1 時間反応させた後、沸とう水浴中に 10 分間加熱した直後の状態を観察した。

【0075】尚、BTGase を添加しない以外は全く同一の処理をしたものと対照とした。結果は第8表に示した。

【0076】

【表8】

第8表

	-BTG	+BTG
5% ゼラチン	×	○
10% ゼラチン	×	○

(注) ×: 完全な溶液

○: ゲル状態（加熱しても溶解しない）

【0077】実施例6

BTGase の基質とするため、絹蛋白質水溶液を以下の 50 方法で調製した。脱脂すみの絹糸 2.33 g を 9.3M 噴化リ

17

チウム (L i B r) 溶液 100ml に加え、40°Cで一晩攪拌すると網糸は可溶化した。この溶液に対し吸引濾過、対水透析を行い粗絹蛋白質水溶液（約2重量%）を得た。

【0078】予め試験管内に最終濃度が 0.01u、0.02u、0.04u / mgタンパク質となるように実施例4(1)におけると同じ BT Gase を入れておき、シェアリングによるゲル化をさけるため静かに網蛋白質水溶液を加えた。対照として BT Gase 未添加のものも用意した。

【0079】各々の試験管を室温で一晩放置後試験管内の試料の状態を観察し第9表の結果を得た。

【0080】

【表9】

第9表

試 料	状 態
網蛋白質水溶液 + BT G	×
網蛋白質水溶液 + BT G (0.01u / mgタンパク質)	○
網蛋白質水溶液 + BT G (0.02u / mgタンパク質)	○
網蛋白質水溶液 + BT G (0.04u / mgタンパク質)	○

(注)

×：試験管倒置により落下。透明溶液状。

○：試験管倒置しても落下せず。白濁ゲル状。

【0081】実施例7

市販牛乳（粗タンパク 2.9%）を約5倍（粗タンパク14.5%）に減圧濃縮して得た濃縮牛乳 1L に対して、実施例4(1)に示したと同じ BT Gase を 2u 加えて攪拌し、55°C、30分インキュベートした。生じたゲル状物を 80~95°C、20分加温し残存酵素を失活させた後、冷却するとプリン状のゲルを得た。

【0082】要すれば、10%程度まで砂糖を添加しても同様のゲル状物を得ることができた。

【0083】実施例8

市販牛乳（粗タンパク 2.9%、油脂 3.2%、水分 89%）を約5倍に減圧濃縮し、濃縮牛乳（約10L）とし、これに30%のグルコノデルタラクトン溶液 100mlを加え、速やかに混合した後、pH6.0 以上であることを確認してから、実施例4(1)に示したと同じ BT Gase を 100u 加えて、攪拌し、45°C、45分間インキュベーター中に静置してゲル化させた。かかる後にゲルを壊さないようにゲルを 80~95°C迄加熱し、BT Gase の失活とグルコノデルタラクトンのグルコン酸への分解を行ない、ゲルの pHを 4~5 に調整した。そして冷却後、カーボド状のゲルを約 8cm 角にカッティングし、酸塩法で 2%程度の塩濃度にして Pen. caseicolum (ペニシリウム・カゼイコラム) のスターを接種し、15°C、3週間、RH85%で

10

熟成させ、チーズを得た。

【0084】尚、グルコノデルタラクトンを用いない場合は、乳酸菌 (*Lactobacillus acidophilus*, ラクトバチルス・アシドフィラス) を添加し、BT Gase でゲル化後、40°Cで2~5時間発酵させても同じようなチーズが得られた。

【0085】本法で得られるチーズは、高価な子牛のレンネットを使用せずに製造することができ、またその物性は、かなりしなやかな弾性をもつ品質の良いものであった。

【0086】実施例9

実施例8の濃縮乳 (1L) を 5°C 前後に冷却して、*Streptococcus thermophilus* (ストレプトコッカス・サーモフィラス) からなるスター (5%程度) をすばやく添加混合し、更に実施例4(1)におけると同様の BT Gase を 1u (約0.01u / gタンパク質に相当) 加えて攪拌し、35°C、1時間インキュベーターの中で静置ゲル化させた。次にゲル温度を 50°C とし、この温度に40分間保持し、*S. thermophilus* によって酸を生成せしめかつフレーバーを増加せしめた後、更に 75~85°C に加温せしめ BT Gase を失活させた。

【0087】冷却すると軽い酸味を持つ品質の優れたヨーグルト様食品が得られた。

【0088】実施例10

市販豆乳 (明治乳業(株) 製「サングロード豆乳」、粗タンパク 3.1%) を約 2.5 倍に減圧濃縮し、更に 20°C 以下に冷却して得られた濃縮豆乳 (粗タンパク 7.75%) 1L に対して、実施例4(1)に示したと同様の BT Gase を 4u (0.05u / gタンパク質に相当) 加えてプラスチック容器に充填し、フタをしシールした後、55°C の湯浴中で 30 分加温し、酵素反応させゲル化した。しかる後に高周波誘電加熱装置 (電子レンジ、2450メガヘルツ、波長 12 cm) を用いて加熱した。

【0089】通常の網ごし豆腐、木綿豆腐と比較するとしなやかで、型くずれしない品質の良い豆腐様ゲルができた。

【0090】実施例11

九大豆 6.5kg を 20kg 位の水に浸漬し、常温で 1 晚充分吸水膨潤させたものを、水を加えながら磨碎機ですりつぶし「ご」を得た。これに更に水を 25kg 加え、ごを薄め少量の消泡剤を添加し煮釜に移し、スチームを吹き込んで加熱した。加熱条件は 5 分かけて 100°C まで上げ、3~5 分保つ方法がよい。煮込み後おから絞り機でおからを除き濃厚豆乳 (粗タンパク 7.0%、油分 8.1%、水分 75%) 30kg 得た。

【0091】これに実施例4(1)に示したと同じ BT Gase を 200u (0.1u / gタンパク質に相当) 加えて直ちにケーシングチューブ (塩化ビニリデンチューブ) に充填し、37°C、30分湯浴中で加熱した。次に 90°C 以上の湯浴中に移し、加熱 (30~60 分) し、流水中で豆腐様ゲル

50

19

20

を得た。

【0092】実施例12

第10表のレシピでカマボコを試作し、レオメーター(不動工業(株)製)による物性測定と官能評価(n=10)を実施した。なお、BTGaseは実施例4(1)におけると同様のものを使用したが、その添加量はすり身乾物1gに対して20uであり、酵素反応はBTGase無添加のコントロールのすわり工程と同様に34°C、2時間とし、反応終了後85°C、30分間加熱して製品とした。

【0093】

10

【表10】

第 10 表

	コントロール (%)	BTGase 添加 (%)
すり身C級	66.9	66.9
馬鈴薯澱粉	6.7	6.7
みりん	2.0	2.0
砂糖	2.0	2.0
食塩	1.7	1.7
MSG	0.7	0.7
水	20.0	19.3
BTGase	0	0.2

*

第 11 表

	破断強度(g)	歪(%)
コントロール (BTGase無添加)	454±50	44.3±2.3
BTGase	804±58	46.3±1.3

【0096】

【表12】

第12表：テクスチャープロファイル

(評価項目)		非常に	やや	どちらとも いえない	やや	非常に
		-2	-1	0	+1	+2
1. かたさ	柔らかい	-+---+	·			固い
2. 齒切れの良さ	齒切れが悪い	-+---+	-+---+	-+---+	-+---+	齒切れが良い
3. 壊れ易さ	壊れにくい	-+---+	-+---+	-+---+	-+---+	壊れやすい
4. 粘性	ねばりがある	-+---+	-+---+	-+---+	-+---+	ねばりがない
5. 弹力性	弾力がない	-+---+	-+---+	-+---+	-+---+	弾力がある
6. 付着性	齒につきやすい	-+---+	-+---+	-+---+	-+---+	齒につきにくい
7. なめらかさ	ざらざら	-+---+	-+---+	-+---+	-+---+	なめらか
8. 食感全体の好ましさ	好ましくない	-+---+	-+---+	-+---+	-+---+	好ましい

(コントロールの評点を0とした時)

【0097】以上のようにBTGaseを添加して試作したカマボコは筋原線維蛋白質の間にε-(γ-Glu) Lys架橋が生成するためコントロールに比べて破断強度が増し、好ましい食感となることがわかった。

【0098】実施例13

第13表のレシピでソーセージを試作し、レオナー

((株)山電製)による物性測定と官能評価(n=10) *

*を実施した。なお、BTGaseは実施例4(1)における同様のものを使用したが、その添加量は豚肉乾物1gに対して1uであり、酵素反応は55℃、2時間とし、反応終了後、80℃、30分間加熱して製品とした。尚、BTGaseを添加しないものをコントロールとした。

【0099】

【表13】

第13表

	コントロール (%)	BTGase 添加 (%)
豚スネ肉	68.4	68.4
食 塩	1.5	1.5
亜硝酸ナトリウム	0.02	0.02
アスコルビン酸Na	0.06	0.06
砂 糖	2.1	2.1
M S G	0.4	0.4
ホワイトペッパー	0.3	0.3
水	27.22	27.20
BTGase	—	0.02

【0100】物性測定および官能評価の結果を第14表及び第15表に示す。

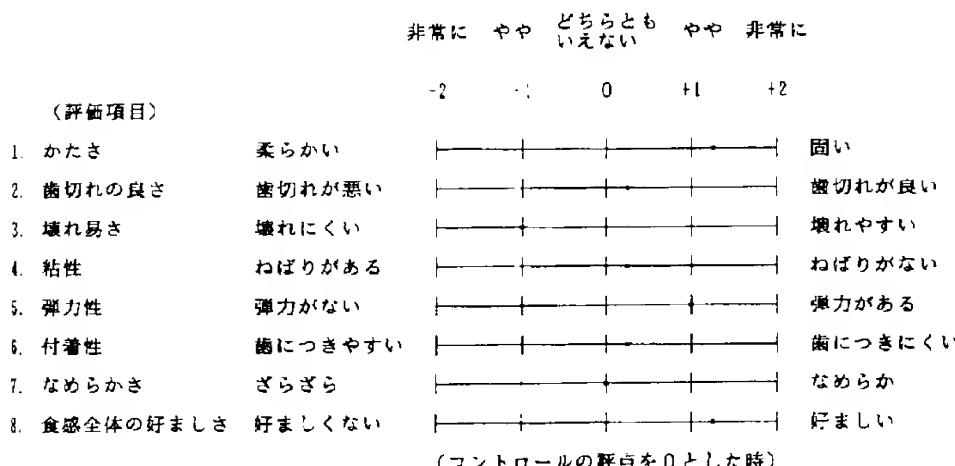
【0101】

【表14】

第 14 表

	弾性率 ($\times 10^5$ dyn · cm $^{-2}$)	粘性率
コントロール	47.3	1.48
B T Gase 添加	5.83	1.92

【0102】

* * 【表15】
第 15 表 : テクスチャープロファイル

【0103】以上のようにB T Gase を添加して試作し 30・実施例4(1)におけると同様のものを使用したが、その添加量はカゼイン・ナトリウム乾物1 gに対して1 uであり、ホイップ操作は万能混合攪拌機((株)三栄製作所製)を用い、7~9°Cで実施した。尚、B T Gase 無添加のものをコントロールとした。

【0104】実施例14

下記第16表のレシピでホイッピング・クリームを試作し、絞り出し特性を評価した。なお、B T Gase は実※

【0105】

【表16】

第 16 表

	コントロール (%)	B T Gase 添加 (%)
ヤシ油	25.0	25.0
カゼインナトリウム	5.0	5.0
モノグリセリド	0.3	0.3
水	59.7	69.7
B T Gase	—	0.005

【0106】それぞれのホイッピング・クリームを用いてガラス板上に花柄を描いて状態を観察したところ、B T Gase を添加したホイッピング・クリームでは画線の

鋭い造花が可能となった。

【0107】実施例15

下記第17表のレシピでアイスクリームを試作し室温

25

に置いた時の形態変化を観察し、メルトダウン耐性を評価した。

【0108】なお、BTGaseは実施例4(1)における同様のものを使用したが、その添加量は脱脂粉乳乾物1gに対して25uであり、酵素反応はアイスクリームミックスの殺菌工程(68℃、30分間)で実施した。殺菌後、5℃で一晩エージングさせたアイスクリームミックスをアイスクリーフリーザー(三菱重工(株)製)を用い、*

26

*品温-2~4℃でオーバーラン90%までフリージングを行い、コーンに充填後、-40℃で硬化させ製品とした。

【0109】尚、BTGaseを添加しない以外は全く同様の操作を行って試作したアイスクリームをコントロールとした。

【0110】

【表17】

第17表

	コントロール (%)	BTGase添加 (%)
ヤシ油	5.0	5.0
脱脂粉乳	8.0	8.0
砂糖	13.0	13.0
水飴	6.0	6.0
グアガム	0.1	0.1
カラギーナン	0.1	0.1
ローカストビーンガム	0.1	0.1
モノグリセライド	0.3	0.3
バニラエッセンス	0.1	0.1
水	67.3	67.1
BTGase	--	0.2

【0111】コントロールは室温静置後15分で形崩れしてしまったが、BTGaseを添加したアイスクリームは30分以上も形崩れを起こさず、しかもコントロールと同様、滑らかな口ざわりをしていた。

【0112】実施例16
試験管内に所要量の牛皮由来アテロコラーゲン粉末(高研(株)製)をとり、0.1M Tris-HClバッファー(pH 7.5)2mlを加え、55℃の水浴中に15分間保持した後攪拌することにより3~10%アテロコラーゲン溶液を調製した。高濃度溶液が冷却によるゲル化をおこさないうちに実施例4(1)におけると同様のBTGaseを0.05u/mgタンパク質となるよう添加し、55℃で60分間インキュベートした。全体のコントロールとしてBTGaseを添加しない10%アテロコラーゲン溶液についても同様にインキュベートした。インキュベート終了直後、室温で60分放置後、更にその後100℃の水浴中に15分保持後に試験管内の様子を観察した。

【0113】その結果を下記第18表に示した。

【0114】

【表18】

第18表

	インキュベート 終了直後	60分 放置後	100℃で 加熱後
3%溶液+BTGase	○	○	○
5%溶液+BTGase	○	○	○
10%溶液+BTGase	○	○	○
10%溶液-BTGase	×	○	×

(注) ○:ゲル化している

×:ゲル化していない

【0115】実施例17

生オキアミ凍結肉(大洋漁業(株)製)1kgをフローズンカッターにより細碎し、これに食塩30g、ソルビトル(味の素(株)製)100g、新ねり味(味の素(株)製)50g、みりん40g、黒レイシヨ酸粉50gを加えさらに2000uのBTGase(実施例4(1)におけると同様のもの)を300mlの冷水に可溶化後加えて、ステファン社製カッターにて約6分混練した。混練直後の温度は5~50 6℃に制御した。

27

【0116】このオキアミ肉ペーストを塩化ビニリデン製のケーシングチューブ(クレハ化学(株)製)に充填し、50℃にて、1時間インキュベート後、沸とう湯浴中で25時間加熱した。加熱後流水中で冷却した後、物性測定をした。即ちサンプルを厚さ3cmに切断し、直径7mmの球形プランジャーを使用して、不動工業社製レオメータ

28

*ターにて測定を行ない、破断強度を求めた。尚、コントロールは、BTGaseを予め、高温加熱変性して失活せしめたものを用い、同様の方法で調製した。

【0117】その結果を下記第19表に示した。

【0118】

【表19】

第19表

	破断強度(g/cm ²)
コントロール区	286
BTGase添加区	442

【0119】すなわち、BTGaseを加えたオキシアミ肉のかまぼこ試作品はBTGaseを予め失活したコントロール区よりも格段に高い破断強度を示すことが認められた。

*第20表のレシピでうどんを作り、官能評価(n=15)と物性測定を実施した。

【0121】

【表20】

【0120】実施例18

※20

第20表

	コントロール (%)	BTGase添加 (%)
強力粉	36.4	36.4
薄力粉	36.4	36.4
食 塩	0.5	0.5
水	26.7	26.7
BTG		0.04

【0122】BTGaseは実施例4(1)におけると同様のものを使用したが、その添加量はタンパク質1g当たり1uとし、室温で2時間酵素反応を行なった後、製麺した。

オメーター(不動工業社製)を用いて引張り試験を行ない破断強度と破断するまでの伸びを測定した。結果を第21表及び第22表に示した。

【0124】

【表21】

【0123】官能評価および物性測定は12分間ゆでたうどんで行なった。物性測定に用いた麺の長さは7cm、レ

29

30

第 21 表：テクスチャープロファイル
(コントロールを 0 とした時の BTGase 添加サンプルの評点)

(評価項目)		非常に やや どちらとも いえない やや 非常に				
		-2	-1	0	+1	+2
1. かたさ	柔らかい	+	+	+	+	固い
2. 歯切れの良さ	歯切れが悪い	+	+	+	+	歯切れが良い
3. 壊れ易さ	壊れにくい	+	+	+	+	壊れやすい
4. 粘性	ねばりがある	+	+	+	+	ねばりがない
5. 弹力性	弾力がない	+	+	+	+	弾力がある
6. 付着性	歯につきやすい	+	+	+	+	歯につきにくい
7. なめらかさ	ざらざら	+	+	+	+	なめらか
8. 食感全体の好ましさ	好ましくない	+	+	+	+	好ましい

【0125】

【表22】

第 22 表

	破断強度 (g)	伸び (mm)
コントロール	706±23	64±5
B TG 添加	885±48**	51±13

n=10、 ** 危険率 1% で有意差あり

【0126】官能評価、物性測定の結果はよく一致しており、 BTGase を添加することにより、グルテン分子の間に架橋構造が生成し、シコシコした讃岐うどんに近い食感の麺が出来ることが明らかになった。

【0127】実施例 19

第 23 表のレシピでスパゲティを作り、官能評価 (n=15) と物性測定を実施した。

【0128】

【表23】

20

第 23 表

	コントロール (%)	BTGase 添加 (%)
強力粉	73.7	73.7
食 塩	0.6	0.6
水	25.7	25.7
B TG	...	0.04

【0129】 BTGase は実施例 4(1) におけると同様のものを使用したが、その添加量は蛋白質 1 g 当たり 1 u とし、室温で 2 時間酵素反応を行なった後、パスタマシン（ラッキーコーヒーメーカー社製）で製麺した。

【0130】官能評価および物性測定は 5 分 30 秒ゆでた麺で行なった。物性測定に用いた麺の長さは 7 cm、レオメーター（不動工業製）を用いて引張り試験を行ない、破断強度と破断するまでの伸びを測定した。結果を第 24 表及び第 25 表に示した。

【0131】

【表24】

31

32

第 24 表：テクスチャープロファイル
(コントロールを 0 とした時の BTGase 添加サンプルの評点)

(評価項目)		非常に柔らかい	やや柔らかい	どちらともいえない	やや硬い	非常に硬い
		-2	-1	0	+1	+2
1. かたさ	柔らかい	-	- +	+		
2. 齒切れの良さ	齒切れが悪い	---	- +	+		
3. 壊れ易さ	壊れにくい	---	- +	+		
4. 粘性	ねばりがある	---	- +	+		
5. 弹力性	弾力がない	---	- +	+		
6. 付着性	齒につきやすい	---	- +	+		
7. なめらかさ	ざらざら	---	- +	+		
8. 食感全体の好ましさ	好ましくない	---	- +	+		

【0132】

【表25】

第 25 表

	破断強度 (g)	伸び (mm)
コントロール	29±2	77±7
B TG 添加	27±1	54±9**

n=10、 ** 危険率 1 % で有意差あり

【0133】 BTGase をスパゲティに作用させても第 24 表のように食感に大きな変化は生じなかったが、 製造工程でミキシングした粉がサラサラしており、 スクリューへのフィーディングがスムーズでシリンダー内の発熱が少ないなど作業性が大幅に改善された。

【0134】

【発明の効果】 本発明の微生物由来の BTGase は安価に供給され、 かつ精製も容易であるので実用性が大であ

る。

【0135】 また、 BTGase を用いることにより、 カルシウム非存在下で又カルシウム存在下でも酵素 (BTGase) 濃度及び基質濃度が非常に低いところで品質の優れたゲル化物を製造できるという利点もある。

【図面の簡単な説明】

【図1】 本願発明の BTG-1 の至適 pH 曲線を示す。

【図2】 本願発明の BTG-1 の至適温度曲線を示す。

【図3】 本願発明の BTG-1 の pH 安定曲線を示す。

【図4】 本願発明の BTG-1 の温度安定曲線を示す。

【図5】 本願発明の BTG-2 の至適 pH 曲線を示す。

【図6】 本願発明の BTG-2 の至適温度曲線を示す。

【図7】 本願発明の BTG-2 の pH 安定曲線を示す。

【図8】 本願発明の BTG-2 の温度安定曲線を示す。

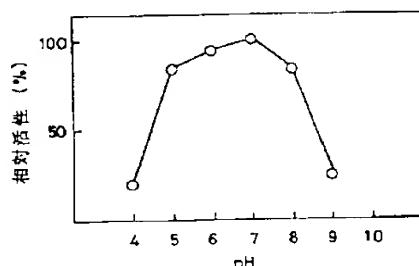
【図9】 本願発明の BTG-3 の至適 pH 曲線を示す。

【図10】 本願発明の BTG-3 の至適温度曲線を示す。

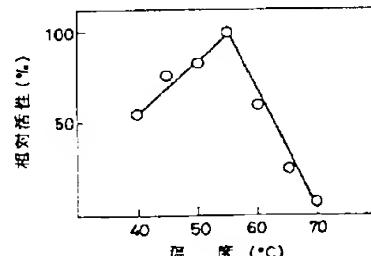
【図11】 本願発明の BTG-3 の pH 安定曲線を示す。

【図12】 本願発明の BTG-3 の温度安定曲線を示す。

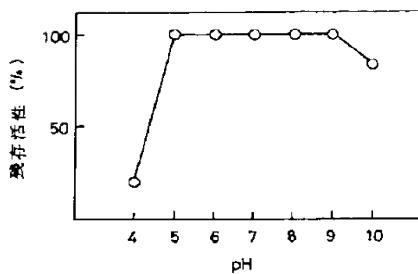
【図1】



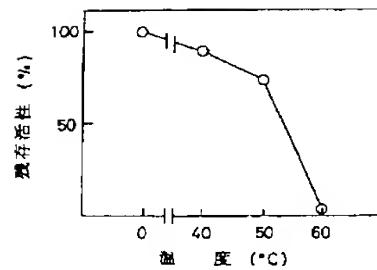
【図2】



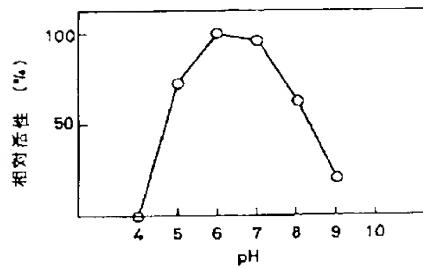
【図3】



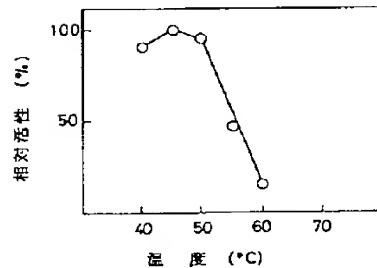
【図4】



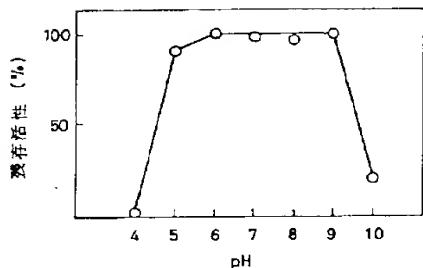
【図5】



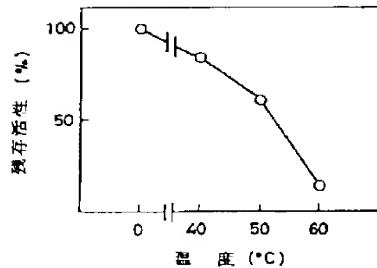
【図6】



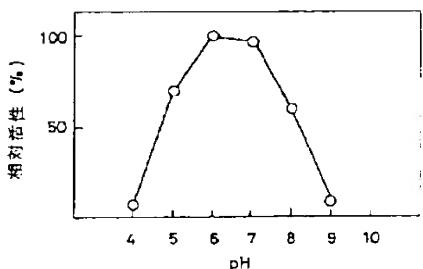
【図7】



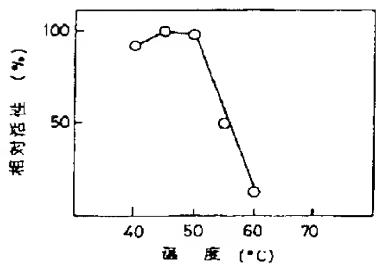
【図8】



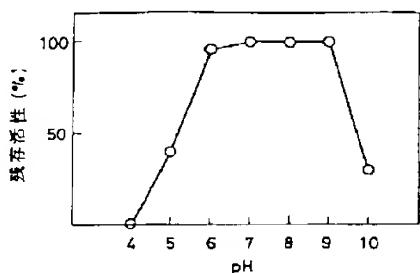
【図9】



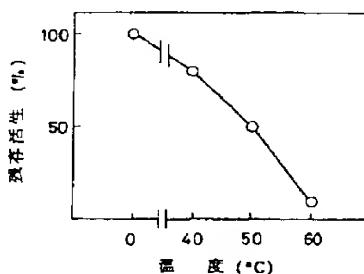
【図10】



【図11】



【図12】



フロントページの続き

(72)発明者 野中 雅彦
神奈川県川崎市川崎区鈴木町1-1 味の
素株式会社中央研究所内

(72)発明者 田中 晴生
神奈川県川崎市川崎区鈴木町1-1 味の
素株式会社中央研究所内

(72)発明者 内尾 良輔
東京都中央区京橋1-5-8 味の素株式
会社内

(72)発明者 松浦 明
愛知県春日井市松本町539-2

(72)発明者 安藤 裕康
愛知県江南市古知野町千丸221

(72)発明者 梅田 幸一
岐阜県羽島郡笠松町北及字北山1984-25